

KHM-5M rakud | 305148

Üldine teave

Description

KHM-5M rakuliin on oluline mudel, mis on saadud patsiendilt, kellel on diferentseerimata kilpnäärmekartsinoom, mis on komplitseeritud neutrofiilia ja pahaloomulise pleuriidiga. Seda rakuliini iseloomustab neutrofiilide kemotaktiliste faktorite, eriti inimese interleukiin 8 (IL-8) ja granulotsüütide-makrofaagide kolooniaid stimuleeriva faktori (GM-CSF) märkimisväärne produktsioon. Need faktorid on olulised neutrofiilide värbamisel ja aktiveerimisel, millel on keskne roll immuunvastuses ja põletikus. KHM-5M rakkude äärmuslik kemotaktiline aktiivsus on tõestatud in vitro katsetega, milles kasutati rakkude konditsioneeritud keskkonda ja modifitseeritud Boydeni kambrimeetodit.

Lisaks siirdati KHM-5M rakke alasti rottidele, kus täheldati neutrofiilide infiltratsiooni siirdatud kasvajakoes ja selle ümbruses. See tulemus rõhutab KHM-5M-i tähtsust mudelina kasvajakude ja immuunsüsteemi mikrokeskkonna vahelise koostoime uurimiseks, eriti seoses neutrofiilide värbamise ja toimimisega. Rakuliin on ka väärtuslik vahend tsütokiinide tootmise aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks vähktõve korral ja sellele järgnevate patoloogiliste tunnuste muutmiseks. DNA-kloonimismeetodite abil kinnitati IL-8 ja GM-CSF-i kemotaktiline aktiivsus, mis kinnistas KHM-5M rakuliini kui olulist ressursi tsütokiinide ja immuunsüsteemi vahelise koostoime uurimisel.

Organism

Inimene

Tissue

Kilpnääre

Disease

Kilpnäärme anaplastiline kartsinoom

Metastatic site

Pleuraefusioon

Synonyms

KHM/5M, KHM5M

Omadused

Age

65 aastat

Gender

Mees

Morphology

Fibroblastide

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

KHM-5M (Cytioni katalooginumber 305148)

KHM-5M rakud | 305148**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2975**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 27 tundi**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

KHM-5M rakud | 305148

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

KHM-5M rakud | 305148

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.